Pacific Hemostasis (R)

Integrated Diagnostics Coagulation Products

Manual de instrucciones de

THROMBOPLASTIN-DS

I. Uso previsto

La Pacific Hemostasis® Thromboplastin-DS se utiliza para pruebas de tiempo de protrombina en una sola etapa y para la valoración de factores basados en TP.

II. Resumen y fundamento

El tiempo de protrombina se utiliza como prueba discriminativa y como prueba cuantitativa para determinar los factores de coagulación en las vías extrínseca y común. Esta prueba se prolonga en pacientes con trastornos adquiridos o congénitos que reducen la actividad de los factores I (fibrinógeno), II (protrombina), V, VII y X. El tiempo de protrombina también se utiliza para controlar los tratamientos con anticoagulante por vía oral [1,2]. Los anticoagulantes administrados por vía oral reducen la actividad de los factores de coagulación vitamina K dependientes (II, VII, IX, X, Proteína C y Proteína S), dando como resultado la prolongación del tiempo de protrombina.

El tiempo de protrombina en una etapa mide el tiempo de coagulación del plasma después de la adición del factor tisular (tromboplastina) y del calcio.

La recalcificación del plasma en presencia del factor tisular genera el factor Xa activado. A su vez, el factor Xa activa el paso de la protrombina en la trombina que convierte el fibrinógeno en un coágulo de fibrina insoluble.

III. Reactivo

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Composición: <2 % de tejido de cerebro de conejo, azida sódica al 0,013 %, soluciones tampón al 5 %, sales y estabilizadores.

Conservar los frascos sin abrir a 2–8 ºC. Reconstituir con agua destilada/desionizada sin conservantes, conforme a las instrucciones indicadas en la etiqueta del frasco de Thromboplastin-DS, girar lentamente y dejarlo reposar durante 15 minutos a temperatura ambiente. No invertir el frasco ni agitarlo vigorosamente. Puede utilizarse líquido de reconstitución, que está disponible, si se duda de la calidad del agua. Tras la reconstitución, conservarlo bien tapado durante 7 días a una temperatura entre 2 y 8 ºC, durante 8 horas a 37 °C, y durante 24 horas a temperatura ambiente (15–25 ºC) [9]. Conservar los frascos sin abrir a 2–8 °C. **No congelar.**

Mezclar con cuidado antes de usar el reactivo. Utilizar un dispositivo, como un agitador magnético, para mantener una suspensión adecuada durante el uso. La ausencia de vacío en los frascos, resultados erróneos, valores de control de calidad fuera de los intervalos establecidos, o variaciones del color del producto son indicativos del deterioro del mismo.

Sin embargo, un funcionamiento deficiente también puede deberse a otros factores de la prueba.

Advertencia: La Thromboplastin-DS contiene azida sódica. En un medio ácido, la azida sódica produce ácido hidrazóico, un compuesto muy tóxico. Los compuestos de azida deben diluirse con agua corriente antes de desecharse. Después de desecharlos debe

verterse gran cantidad de agua. Se recomienda seguir estas precauciones a fin de evitar la acumulación de residuos en las tuberías de metal, que pueden generar condiciones explosivas.

IV. Recogida de muestras

Para las pruebas de coagulación se recomienda utilizar como anticoagulante, citrato de trisódico al 3,2 % (0,105 M) para las pruebas de coagulación. Evitar la hemólisis y la contaminación por los fluidos tisulares. Rechazar las muestras
con volumen de llenado inferior al 90% del volumen esperado. Centrifugar la sangre durante 15 minutos a 1500 x g.

Realizar la prueba antes de 2 horas si las muestras se conservan a 22–24 ºC. Si no va a realizar la prueba antes de las 24 horas, congelar el plasma a -20 °C durante un máximo de 2 semanas, o a -70 °C durante un máximo de 6 meses.

Para más detalles sobre la recogida y conservación de muestras consulte el documento H21-A3 del NCCLS[3].

• No retrasar la mezcla de la sangre con el anticoagulante.
• Evitar la formación de espuma en la muestra.
• Utilizar únicamente recipientes de plástico o de vidrio siliconado.
• Las muestras turbias, ictéricas, lipémicas o hemolizadas pueden generar resultados erróneos.
• La congelación y posterior descongelación de plasma con células residuales puede romper las membranas de las células, afectando adversamente a los resultados.
• Las reacciones inflamatorias agudas pueden acortar los resultados del tiempo de protrombina debido a la elevada tasa de fibrinógeno.
• Las muestras de plasma con hematocritos fuera del intervalo de 20–55% pueden no resultar correctamente anticoaguladas y el anticoagulante debe ser ajustado adecuadamente.

V. Procedimiento de la prueba

Material suministrado: Thromboplastin-DS Reagent, 10 x 4 mL, 10 x10 mL o 10 x 2 mL

Material necesario pero no suministrado:

Agua destilada o desionizada, o Pacific Hemostasis Reconstitution Fluid Cronómetro
Pipeta de precisión: 0,1 y 0,2 mL
Controles normales y anormales tales como Pacific Hemostasis Coagulation Control Plasmas, Level 1, 2 y 3.

Thromboplastin-DS puede utilizarse con métodos de detección de coágulos, manuales, mecánicos, fotoópticos, nefelométricos y otros. Siga las instrucciones del fabricante sobre el uso correcto del instrumento. Para pruebas manuales:

A. Calentar Thromboplastin-DS a 37 ºC.
B. Poner 0,1 mL de plasma de prueba en la cubeta y precalentar a 37 °C.
C. Añadir con fuerza 0,2 mL de Thromboplastin-DS al plasma de prueba y cronometrar hasta la formación del coágulo.

VI. Control de calidad

Plasmas normales y anormales tales como Pacific Hemostasis Coagulation Control, Level 1, 2 y 3, deben ser analizados junto con el plasma de los pacientes. El Level 1 es plasma normal liofilizado. Los Levels 2 y 3 han sido ajustados para simular plasmas moderadamente y seriamente deficientes, respectivamente. Deben realizarse controles de plasma normal y anormal cada día al inicio de la pruebas y al menos una vez en cada turno, o con cada grupo de ensayos. Asimismo, los controles deben ser analizados con cada cambio de reactivo o cada vez que se haga un ajuste importante del instrumento. En los laboratorios que realizan un elevado número de pruebas de TP y/o TTPA, es

necesario realizar una prueba de control al menos cada 40 muestras[6]. Cada laboratorio debe establecer un intervalo de control que representa la variación diaria permisible para cada control.

VII. Resultados

Informar, para cada plasma, de los tiempos de coagulación de cada plasma a la décima de segundo más próxima. También puede indicarse el intervalo de referencia normal para comparación. No informar de los valores de los pacientes relacionados con los tiempos de coagulación del plasma de control comercial. Dichos controles sólo se utilizan como garantía de calidad del sistema de prueba.

Determinación del cociente internacional normalizado (INR)

Una consecuencia no deseada del tratamiento con anticoagulantes orales puede ser la tendencia a hemorragias.

Para maximizar los efectos terapéuticos deseados y minimizar la hemorragia, la OMS ha recomendado un procedimiento para normalizar las pruebas y el tratamiento. Este procedimiento se basa en el cociente internacional normalizado (INR)[7,8].

El INR se calcula relacionando el tiempo de protrombina del paciente con la media de un intervalo de referencia normal (NRR medio NRR), con la siguiente formula matemática:

$$INR = (TP\ del\ paciente / medio_{NRR})^{ISI}$$

Por ejemplo, con un valor de ISI de 1,00 y un medio normal de 12,0 segundos, el INR de un tiempo de protrombina de 40,0 se calcula de la siguiente forma:

$$INR = (40.0/12.0)^{1.00} = (3.33)^{1.00} = 3.33$$

El índice internacional de sensibilidad (ISI) es una medida de la respuesta de tromboplastina/sensibilidad del instrumento a los factores de coagulación. Los valores de ISI se asignan mediante comparación a un material de referencia primario.

Reactivos de alta sensibilidad tienen bajos valores ISI. Según las recomendaciones de la OMS, los valores de INR superiores a 5,5 exponen el paciente a riesgos innecesarios debido a complicaciones hemorrágicas. Generalmente se aconseja que los pacientes con un tratamiento con anticoagulante oral estabilizado sean mantenidos a un INR de 2,0 – 3,5, según las indicaciones clínicas[2]. El valor de ISI específico a cada lote de Thromboplastin-DS está indicado en la etiqueta de la caja. Póngase en contacto con Fisher Diagnostics Technical Services si necesita valores ISI adicionales de los instrumentos.

VIII. Limitaciones

El proceso bioquímico de la coagulación implica una serie de reacciones que están influenciadas por múltiples condiciones previas a la prueba. Debe controlar estas variables si desea obtener resultados reproducibles3. Se ha detectado que, algunas veces, muestras de pacientes con valores INR superiores al intervalo terapéutico recomendado de 2,0–3,52 puede generar un resultado de “Coag Error 3” en un instrumento de ACL . Si se obtiene tal mensaje de error, la muestra debe analizarse con Thromboplastin-DS y con un método alternativo.

Técnica:

• El pH del plasma subirá si éste está en contacto con el aire. Conservar las muestras en recipientes cerrados de plástico o de vidrio siliconado.

• El plasma que se conserva a 4–8 ºC puede sufrir una activación por el frío, provocando un reducción significativa del tiempo de protrombina[4].

• La Thromboplastin-DS está diseñada para trabajar a una temperatura de 37 °C ± 0,5°C. Compruebe frecuentemente la temperatura de todos los elementos calefactores.
• Todo el material de laboratorio debe estar limpio y libre de restos de detergentes.
• Siga cuidadosamente las instrucciones del fabricante sobre el mantenimiento correcto del instrumento.

Sustancias interferentes:

• Oxalato de sodio, EDTA y heparina no son anticoagulantes adecuados.
• El uso de sustancias como contraceptivos orales, corticosteroides, EDTA, asparaginasa, clofibrato, eritromicina, etanol, tetraciclina, y anticoagulantes como heparina y warfarina pueden prolongar el tiempo de protrombina[5].
• Sustancias como antihistamínicos, butabarbital, cafeína, contraceptivos orales, fenobarbital y vitamina K pueden reducir el tiempo de protrombina[5].

IX. Valores previstos

En estudios multicéntricos, la valoración de Thromboplastin-DS en una población normal dio los siguientes resultados 10:

Instrumento	TP Medio (seg)	Intervalo (+/- 2 DS)	N
MLA Electra 1000C™	13.2	11.4-15.0	50
MLA Electra 900C™	13.7	12.4-15.0	20
IL ACL™ 300/3000 +	10.5	8.9-12.1	61
Amelung KC 10™	12.7	9.3-14.2	20
Pacific Hemostasis ThromboScreen 400 C	13.5	12.2-14.8	38
Pacific Hemostasis ThromboScreen 200	13.5	12.0-15.1	60

Estos valores sólo deben servir de guía. Cada laboratorio debe establecer su propio intervalo normal de referencia, empleando los instrumentos, métodos de recogida de sangre y las técnicas de análisis utilizados habitualmente. El intervalo normal de referencia debe restablecerse, o al menos comprobarse, cada vez que se cambie de número de lote del mismo reactivo[3,6], y un nuevo intervalo normal de referencia debe establecerse cada vez que se cambie el reactivo, el instrumento, las técnicas de recogida de sangre, o el anticoagulante.

El tiempo de coagulación de los plasmas anormales dependerá del ISI del reactivo utilizado.

X. Características de funcionamiento

Precisión: La precisión de los resultados del Prothrombin Time depende de muchos factores, tales como el instrumento, la técnica y el reactivo utilizados. La precisión de la Thromboplastin-DS fue evaluada mediante pruebas con plasma normal y anormal en diferentes instrumentos. A continuación se indica un resumen de los resultados. [11]

Resumen de estudios de precisión intra-serie, %CV (N = 20)

Muestra	MLA Electra 1000 C	ThromboScreen 400 C	ThromboScreen 200	Amelung KC10
Normal	1.1%	1.9%	1.9%	2.9%
Anormal	2.8%	2.5%	2.3%	1.1%

Sensibilidad: La Thromboplastin-DS detecta deficiencias en la vía extrínseca, según determina la prueba del tiempo de protombina. La prueba de sensibilidad a los factores se realizó diluyendo plasma normal con plasmas con deficiencia de factor, de tal forma que la concentración del factor final iba de 10 a 100 %. Se utilizó un instrumento MLA-1000C para realizar la prueba de TP en las muestras[12].

% de Factor	Tiempo Protrombina (segundos)			
	Factor II	Factor V	Factor VII	Factor X
100	11.6	11.6	11.8	11.7
50	11.6	13.2	12.6	12.8
40	11.7	13.9	12.8	13.3
30	12.3	14.9	13.5	14.1
20	12.8	15.9	13.9	14.8
10	14.1	18.3	15.2	17.0

Correlación: Se realizaron estudios de correlación frente a otros dos reactivos de tromboplastina sensibles, comprobando el tiempo de protrombina en muestras normales y anormales. Se utilizó un Stago STA para realizar las pruebas[13].

	Correlación de TP	Correlación de INR
Thromboplastin DS vs Reactivo A, N = 49	R= 0.98 y = + 1.16 +1.30	R= 0.98 y = 0.89x + 0.05
Thromboplastin DS vs Reactivo B, N = 49	R = 0.95 y = + 1.01 +2.20	R= 0.95 y = 0.82x + 0.10

XI. Bibliografía

1. Errichetti, A.M., Holden, A., Ansell, J.: *Management of Oral Anticoagulant Therapy: Experience with an Anticoagulation Clinic.* Arch Inter Med. 144:1966-68, 1984.
2. Hirsh, J., Dalen, J.E., Deykin, D., Poller, L.: *Oral Anticoagulants: Mechanisms of Action, Clinical Effectiveness, and Optimal Therapeutic Range.* Chest 102(Suppl): 312S-316S, 1992.
3. NCCLS: *Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Coagulation Testing and General Performance of Coagulation Assays; Approved Guideline.* NCCLS document H21-A3. NCCLS, Wayne, PA, 1998.
4. Palmer, R.N., Gralnick, H.R.: *Inhibition of the Cold Activation of Factor VII and the Prothrombin Time.* Am J Clin Path. 81: 618-622, 1984.
5. Young, D.S., Thomas, D.W., Friedman, R.B., et al: *Effect of Drugs on Clinical Laboratory Tests.* Clin Chem 18:1041, 1972.
6. NCCLS: *One-Stage Prothrombin Time (PT) Test and Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) Test; Approved Guideline.* NCCLS document H47-A. NCCLS, Wayne, PA, 1996.

7. Dalen, J.E., Hirsh, J.: *American College of Chest Physicians and the National Heart, Lung, and Blood Institute National Conference on Antithrombotic Therapy.* Arch Inter Med. 146:462-472, 1986.
8. Palaereti, G., Coccheri, S., Poggi, M., et al: *Oral Anticoagulant Therapy Control: Evidence that the INR Expression Improves the Interlaboratory Comparability of Results. The Bologna Oral Anticoagulant Control Exercise*. Thromb *Haemostasis* 58:905-910, 1987.
9. Los datos de la estabilidad proceden de DHF.
10-13. Información procedente de un archivo de 510(K).

Información para pedidos

Nº de ref. Descripción Contenido

100354 Thromboplastin-DS 10 x 4 mL
100362 Thromboplastin-DS 10 x 10 mL
100353 Thromboplastin-DS 10 x 2 mL
100244 Reconstitution Fluid 10 x 10 mL

GARANTÍA LIMITADA DE FISHER DIAGNOSTICS®

Fisher Diagnostics (FD) garantiza al comprador que sólo los productos de Fisher Diagnostics funcionarán tal y como se describe en sus etiquetas y documentación. El comprador debe determinar si los productos de Fisher Diagnostics son idóneos para sus aplicaciones específicas. La única obligación de Fisher Diagnostics será, a su elección, la sustitución de un producto defectuoso o que no cumpla con las especificaciones, o bien la devolución del precio de compra.

FD RECHAZA CUALQUIER OTRA GARANTÍA, SEA EXPRESA O IMPLÍCITA, INCLUYENDO LAS GARANTÍAS DE COMERCIABILIDAD E IDONEIDAD PARA CUALQUIER PROPÓSITO INDIVIDUAL. Ni FD ni sus afiliados podrán ser considerados responsables, en ningún caso, por las pérdidas o daños incidentales o consecuentes.

Pacific Hemostasis® es una marca registrada de Fisher Scientific Company L.L.C.
Fisher Diagnostics® es una marca registrada de Fisher Scientific Company L.L.C.
ACL TM es una marca registrada de Instrumentation Laboratory.
MLA Electra 900C TM y MLA Electra 1000C TM son marcas registradas de Instrumentation Laboratory.
Amelung KC10 TM es una marca registrada de Trinity Biotech

Pacific Hemostasis
840149
Rev. 06/03

THROMBOPLASTIN-DS

Fisher Diagnostics®
Fisher Scientific Company L.L.C.
8365 Valley Pike
Middletown, VA 22645-0307,
EE.UU.
1-(800)-528-0494 sólo en EE.UU.
MDCI Ltd.
Arundel House
1 Liverpool Gardens
Worthing, West Sussex BN11 1SL
R.U.